Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire
Pest Management Regulatory Agency

Projet de décision réglementaire PRDD2007-01

Biofongicide RootShield
Trichoderma harzianum Rifai souche KRL-AG2

En vertu du *Règlement sur les produits antiparasitaires* (RPA), il est proposé d'accorder une homologation complète au biofongicide de qualité technique RootShield et à ses préparations commerciales (PC), la poudre mouillable de biofongicide RootShield Drench et les granulés de biofongicide RootShield, qui contiennent le microorganisme fongique *Trichoderma harzianum* Rifai souche KRL-AG2; ces produits sont destinés à la suppression des maladies transmises par le sol dans les serricultures de tomates, de concombres et de plantes ornementales.

Ce projet de décision réglementaire présente un sommaire des données reçues ainsi que des motifs justifiant l'homologation complète de ces produits. L'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire (ARLA) de Santé Canada acceptera les commentaires écrits concernant ce projet pendant les 45 jours suivant la date de publication du présent document. Veuillez faire parvenir tout commentaire aux Publications, dont l'adresse figure ci-dessous.

(also available in English)

Le 9 janvier 2007

Ce document est publié par la Division des nouvelles stratégies et des affaires réglementaires, Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire. Pour de plus amples renseignements, veuillez communiquer avec :

Publications
Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire
Santé Canada
2720, promenade Riverside
I.A. 6605C
Ottawa (Ontario) K1A 0K9

Internet : pmra_publications@hc-sc.gc.ca
www.pmra-arla.gc.ca
Service de renseignements :
1-800-267-6315 ou 613-736-3799
Télécopieur : 613-736-3758

ISBN : 978-0-662-73220-4 (978-0-662-73221-1)
Numéro de catalogue : H113-9/2007-1F (H113-9/2007-1F-PDF)

© Sa Majesté la Reine du chef du Canada, représentée par le ministre des Travaux publics et Services gouvernementaux Canada 2007

Tous droits réservés. Il est interdit de reproduire ou de transmettre l'information (ou le contenu de la publication ou produit), sous quelque forme ou par quelque moyen que ce soit, enregistrement sur support magnétique, reproduction électronique, mécanique, ou par photocopie, ou autre, ou de l'emmagasiner dans un système de recouvrement, sans l'autorisation écrite préalable du ministre des Travaux publics et Services gouvernementaux Canada, Ottawa, Ontario K1A 0S5.

Avant-propos

L'ARLA de Santé Canada a examiné la demande d'homologation complète de la souche KRL-AG2 de *T. harzianum* Rifai contenue dans le biofongicide de qualité technique RootShield et dans ses PC, la poudre mouillable de biofongicide RootShield Drench et les granulés de biofongicide RootShield, fabriqués par BioWorks Inc., pour lutter contre les pathogènes des racines sur la tomate, le concombre et les plantes ornementales en serre. La présente demande a été soumise dans le cadre du Programme d'homologation des usages limités à la demande des utilisateurs avec l'appui du comité des usages mineurs du Réseau national des légumes de serre.

L'ARLA a déjà accordé une homologation temporaire à ces produits dans la note réglementaire REG2002-01, *Fongicide biologique Rootshield Trichoderma harzianum Rifai souche KRL-AG2*, à la condition que BioWorks Inc. procède à d'autres études, qui sont maintenant terminées.

Les fongicides biologiques RootShield Drench en poudre mouillable et RootShield en granulés sont des biopesticides microbiens composés à 1,15 % de la souche KRL-AG2 de *T. harzianum* Rifai, souche modifiée d'un champignon tellurique naturel. On propose l'utilisation des PC RootShield contre les pathogènes des racines dans les cultures en serre. Elles seront précieuses surtout pour la serriculture de tomates et de concombres; en effet, il existe à l'heure actuelle très peu de produits phytosanitaires destinés à ce type de cultures, où l'on privilégie la lutte non chimique. Le recours aux biopesticides microbiens comme solution de rechange aux pesticides chimiques classiques suscite de plus en plus d'intérêt puisqu'on juge qu'ils représentent un risque potentiel moindre pour la santé humaine et l'environnement. Les préparations RootShield en poudre mouillable et en granulés sont des produits à risque réduit pouvant se substituer aux fongicides chimiques.

L'ARLA a procédé à une évaluation des renseignements à sa disposition, conformément au RPA, et elle les a jugés suffisants pour déterminer l'innocuité, la valeur et les avantages du biofongicide de qualité technique RootShield et de ses PC, la poudre mouillable de biofongicide RootShield Drench et les granulés de biofongicide RootShield. L'ARLA a conclu que l'utilisation de la souche KRL-AG2 du microorganisme *T. harzianum* Rifai contenu dans la matière active de qualité technique (MAQT) et dans les PC conformément au mode d'emploi figurant sur l'étiquette présente des avantages et une valeur, aux termes du RPA, sans comporter de risque inacceptable. L'ARLA propose donc, à la lumière des considérations qui précèdent, l'homologation complète de l'agent microbien *T. harzianum* Rifai souche KRL-AG2 et de ses PC RootShield pour lutter contre les pathogènes des racines dans les serricultures de tomates, de concombres et de plantes ornementales, ceci en vertu du RPA.

Table des matières

1.0 La matière active, ses propriétés et ses utilisations 1
1.1 Description de la matière active et des impuretés 1
1.2 Propriétés physicochimiques de la matière active et de ses préparations commerciales 2
1.3 Détails relatifs aux utilisations et renseignements complémentaires 2

2.0 Méthodes d'analyse 4
2.1 Méthodes d'analyse du microorganisme tel que préparé 4
2.1.1 Méthodes d'identification du microorganisme 4
2.1.2 Méthodes de détermination de la pureté des souches 5
2.1.3 Méthodes de détermination de la teneur en microorganismes du produit de fabrication utilisé pour la production de la préparation commerciale .. 5
2.1.4 Méthodes de dosage des impuretés d'importance dans le produit préparé 5
2.1.5 Méthodes visant à prouver l'absence de pathogènes pour l'humain et les mammifères 7
2.1.6 Méthodes de détermination de la stabilité à l'entreposage et de la durée de vie du microorganisme 7
2.2 Méthodes d'analyse et de quantification des résidus (viables ou non) du microorganisme actif et de ses métabolites pertinents 8

3.0 Effets sur la santé humaine et animale 9
3.1 Résumé d'ensemble sur la toxicité et l'infectiosité 9
3.2 Signalement de cas d'hypersensibilité 10
3.3 Effets sur la santé humaine et animale découlant de l'exposition à la matière active ou aux impuretés qu'elle contient 11
3.3.1 Évaluation de l'exposition professionnelle et occasionnelle 11

4.0 Résidus 12
4.1 Sommaire des données sur les résidus 12
4.2 Limite maximale de résidus 13

5.0 Devenir et comportement dans l'environnement 13
5.1 Résumé sur le devenir et le comportement en milieu terrestre 13
5.1.1 Études sur le terrain 13
5.1.2 Conclusions 14

6.0 Effets sur les espèces non ciblées 14
6.1 Effets sur les organismes terrestres 14
6.2 Effets sur les organismes aquatiques 15
6.3 Caractérisation des risques 15

7.0 Efficacité 16
7.1 Efficacité contre des maladies particulières 16
7.2 Toxicité et pathogénicité pour les végétaux ciblés ou les produits dérivés des végétaux ciblés 18
7.3 Compatibilité avec les pratiques de lutte actuelles, y compris la lutte intégrée .. 18
7.4 Contribution à la réduction des risques 19
7.5 Renseignements sur l'acquisition, réelle ou potentielle, de la résistance 19
7.6 Conclusions 19

8.0 Considérations relatives à la Politique de gestion des substances toxiques 20

9.0 Projet de décision réglementaire 20

Liste des abréviations 21

Annexe I Tableaux récapitulatifs 23
Tableau 1 Résumé d'études sur la toxicité et la pathogénicité du biofongicide RootShield *Trichoderma harzianum* souche KRL-AG2 23
Tableau 2 Sommaire des effets sur les organismes terrestres 25
Tableau 3 Résumé des effets sur les organismes aquatiques 28

1.0 La matière active, ses propriétés et ses utilisations

1.1 Description de la matière active et des impuretés

Microorganisme actif	*Trichoderma harzianum* souche KRL-AG2
Utilité	Biofongicide
Nom scientifique	*Trichoderma harzianum* Rifai souche KRL-AG2
Désignation taxonomique	
Règne	Champignons
Embranchement	Deutéromycètes
Ordre	Hyphomycètes (syn. Moniliales)
Genre	*Trichoderma*
Espèce	*harzianum*
Souche	KRL-AG2
Renseignements relatifs à un brevet canadien	Aucun
Pureté nominale de la matière active (m.a.)	La préparation « de qualité technique » est composée à 100 % de la m.a., ce qui correspond à un minimum de $5,0 \times 10^8$ unités formant colonies par gramme de poids sec (UFC/g p.s.) de la souche KRL-AG2 de *T. harzianum*. Les PC RootShield sont composées à 1,15 % en masse de la m.a. (soit un minimum de 10^7 UFC/g).
Nature des impuretés d'importance toxicologique, environnementale ou autre	Le produit de qualité technique ne contient ni impureté, ni microcontaminant figurant sur la liste des substances de la voie 1 de la Politique de gestion des substances toxiques (PGST). Une charge bactérienne supérieure à 10^7 UFC/g ou la présence d'un pathogène humain entraînera le rejet de la culture de départ, l'interruption du processus de production ou l'élimination du produit final. Les cultures souches sont rejetées si l'on détecte une contamination fongique ou bactérienne quelle qu'elle soit. Les PC RootShield peuvent contenir des peptides antibiotiques connus sous le terme générique de peptaïbols. L'absence d'effets toxiques dans les études de toxicité chez les mammifères (voir la section 3.0) suggère que le processus de fabrication ne favorise pas la production de ces métabolites potentiellement toxiques ou que les quantités produites sont trop faibles pour provoquer un effet chez les animaux recevant une dose élevée de ce champignon.

1.2 Propriétés physicochimiques de la matière active et de ses préparations commerciales

Matière active de qualité technique : Biofongicide RootShield
Sans objet. Les biofongicides RootShield Drench en poudre mouillable et RootShield en granulés sont produits selon un procédé de fabrication en continu, sans recours à un intermédiaire de qualité technique.

Préparations commerciales : Biofongicides RootShield en granulés et RootShield Drench en poudre mouillable

Propriétés	Granulés RootShield	Poudre mouillable RootShield Drench
État physique à 25 degrés Celsius (°C)	Poudre granuleuse grossière	Poudre granuleuse fine
Couleur	Gris ou vert Indice Munsell 7.5Y 5/1.4	Gris ou vert Indice Munsell 2.5Y 8.3/2
Odeur	Absente à terreuse	Absente à terreuse
pH dans l'eau distillée	7,05	7,92
Densité	Densité apparente : 0,61 g/cm^3 Densité après tassement : 0,68 g/cm^3	Densité apparente : 0,29 g/cm^3 Densité après tassement : 0,63 g/cm^3
Viscosité	Sans objet	Sans objet
Corrosivité	Indéterminée	Indéterminée
Pouvoir suspensif	Indéterminé	Indéterminé
Teneur en humidité	Indéterminée	Indéterminée

1.3 Détails relatifs aux utilisations et renseignements complémentaires

On propose l'utilisation des PC RootShield Drench en poudre mouillable et RootShield en granulés pour enrayer les maladies racinaires causées par le *Pythium*, le *Rhizoctonia* et le *Fusarium* dans les cultures alimentaires et non alimentaires produites en serre (catégories d'utilisation 5 et 6, respectivement). Dans le cas des tomates, des concombres et des plantes ornementales, on applique le produit sur le substrat de croissance; dans celui des bulbes ornementaux, on l'applique directement sur les bulbes. La poudre mouillable est mélangée avec assez d'eau pour permettre une application et une pulvérisation (à faible pression) uniformes sur le substrat de croissance. La dose d'application est de 6 à 15 g de produit par mètre carré (m^2) de surface cultivée ou de 150 g pour 1 000 pots (de 5 à 8 centimètres [cm] de diamètre). On peut tremper les bulbes ornementaux dans une suspension de 120 grammes par litre (g/L) avant de les mettre en terre. La préparation en granulés est ajoutée au substrat de croissance à raison de

750 g/m^3 de produit, par ratissage, par labourage ou par incorporation dans le terreau au moment de sa préparation.

Le *Trichoderma* est un genre de deutéromycète filamenteux répandu dans l'environnement. On en trouve dans la plupart des sols, autant les humus forestiers que les terres agricoles et le sol des vergers. On signale rarement la présence d'espèces de *Trichoderma* sur les végétaux vivants, jamais comme endophytes. Le *T. harzianum* est un antagoniste des champignons telluriques pathogènes. Son mode d'action est complexe, faisant intervenir la chimiotaxie, l'antibiose et le parasitisme. L'interaction initiale entre le parasite et son hôte semble être la croissance chimiotactique. L'hyphe du mycoparasite croît directement vers son hôte en réaction à la sécrétion de lectine. Il semble que les lectines produites par l'hôte se lient aux résidus de galactose sur la paroi cellulaire du *T. harzianum*, ce qui permet à celui-ci de localiser sa cible. Le processus antagoniste débute avant le contact physique. Le champignon sécrète des enzymes et des antibiotiques qui dégradent la paroi cellulaire. Ces enzymes comprennent des β-1,3 glucanases, des chitinases et des protéinases. On a également signalé la production de plusieurs antibiotiques volatils et non volatils, par exemple des diterpènes, des peptaïbols, des buténolides, des furanones, des pyrones et des pyridones. On croit que ces enzymes et antibiotiques ont un effet synergique sur l'hôte. Apparamment, l'affaiblissement de la paroi cellulaire, chez l'hôte, accroît le taux de diffusion des antibiotiques à travers la membrane. Au moment du contact physique, les hyphes du *T. harzianum* s'enroulent autour de l'hôte pour entamer une croissance invasive. Peu après, les hyphes de l'hôte s'affaissent sous l'effet d'une baisse de la pression de turgescence.

La souche KRL-AG2 du *T. harzianum* a été dérivée de la fusion de deux souches auxotrophes de cette espèce : T12m-2 his$^-$ et T95-1 lys$^-$. T12m-2his$^-$ est une souche auxotrophe histidinodéficiente dérivée de la souche T12m par mutation induite par rayonnement ultraviolet. La souche T12m est issue d'une mutation spontanée de la souche T12, isolat naturel provenant d'un sol de Geneva, New York, obtenu par sélection sans traitement mutagène de la résistance au cycloheximide comme marqueur. La souche T95-1 lys$^-$ est une souche auxotrophe lysinodéficiente dérivée de la souche T95 suivant une mutation induite par rayonnement ultraviolet et une sélection, la souche T95 étant un mutant résistant au bénomyle dérivé d'une souche sauvage isolée en Colombie, Amérique du Sud.

Les souches T12 et T95 ont été sélectionnées pour la fusion de protoplastes en raison de leur capacité à lutter contre plusieurs pathogènes des végétaux. La souche T95 est aussi capable de coloniser les racines de plantes issues de semences inoculées. La souche KRL-AG2 est dérivée principalement de la souche T12. Les marqueurs moléculaires, c'est-à-dire quatre loci d'isoenzymes pour lesquels les souches parentales expriment des allèles différents, appartiennent au phénotype T12. La souche KRL-AG2 est aussi sensible au bénomyle, comme la T12, mais pas la T95. Même si les dérivés des souches T12 et de la T95 utilisés pour la fusion de protoplastes sont auxotrophes, la KRL-AG2 est complètement prototrophe.

2.0 Méthodes d'analyse

2.1 Méthodes d'analyse du microorganisme tel que préparé

2.1.1 Méthodes d'identification du microorganisme

Le demandeur d'homologation a présenté des méthodes appropriées de détection, d'isolement et de dénombrement pour la m.a., la souche KRL-AG2. On a eu recours à deux techniques différentes pour identifier l'agent microbien de lutte antiparasitaire (AMLA) : l'analyse des isoenzymes pour évaluer les cultures de départ avant la mise en production, et la culture sur milieu sélectif pour distinguer la souche KRL-AG2 des autres souches de *Trichoderma* en fonction des caractéristiques morphologiques des colonies. La croissance végétative se fait par la formation d'hyphes, et la reproduction, asexuée, est assurée par la production de conidiospores et de chlamydospores. La sporulation dépend de facteurs comme la nutrition, le pH et la lumière.

L'identification à l'espèce du *T. harzianum* est effectuée au moyen des techniques mycologiques courantes pour ce genre. Les essais complémentaires effectués pour distinguer la souche KRL-AG2 des autres espèces de *Trichoderma* et des autres souches de *T. harzianum* incluent l'électrophorèse d'isoenzymes et l'étude morphologique des colonies sur milieu de culture différentiel conçu pour la reconnaissance des souches. On a confirmé la position taxonomique de la souche KRL-AG2 par examen au microscope des structures reproductives asexuées (conidiospores et phialides), en se fondant sur la description de l'espèce par Rifai.

L'électrophorèse sur gel d'amidon permet de différencier la souche KRL-AG2 de la plupart des autres souches de *Trichoderma* grâce à la comparaison de 17 profils isoenzymatiques avec des profils alléliques connus. Les exceptions connues sont la souche T12 de *T. harzianum* (et ses dérivés) et la souche 1892, qui présentent la même distribution allélique que la souche KRL-AG2 aux loci isoenzymatiques étudiés. Un mutant auxotrophe de la souche T12 a été utilisé pour la production de la souche KRL-AG2 par des techniques de fusion de protoplastes.

On distingue aussi la souche KRL-AG2 de *T. harzianum* des autres souches, y compris la souche T12, par examen de la morphologie des colonies cultivées sur un milieu de culture différentiel, le cycloheximide-chlortétracycline-nystatine-sulfate de streptomycine (CCNS). Le CCNS se compose d'une gélose dextrosée à la pomme de terre (PDA), enrichi de cycloheximide, de chlortétracycline, de nystatine, de sulfate de streptomycine et d'Igepal. Les cultures sur CCNS sont incubées pendant sept jours (j) à 25 °C avec des photopériodes de 12 heures (h). Au départ, les colonies de KRL-AG2 sont de couleur blanchâtre et ne produisent pratiquement pas ou pas du tout de pigment diffusible dans la gélose environnante. Après plusieurs jours d'incubation, elles produisent des masses de spores vertes dans les zones de forte sporulation en régime diurne, alors que les autres souches produisent des masses de spores plus pâles avec peu de variation quant à la densité des masses de spores en régime diurne.

La morphologie des colonies de la souche KRL-AG2 de *T. harzianum* dépend de facteurs comme le milieu de culture et la lumière. Sur PDA, le périmètre des colonies est blanc, d'apparence cotonneuse, les spores vertes faisant ressortir une couleur vert pâle à vert foncé au centre de la

colonie. Lorsque la densité est élevée, les hyphes aériens blancs sont moins longs, ce qui augmente la densité de la masse de spores.

2.1.2 Méthodes de détermination de la pureté des souches

La culture-mère et les cultures de départ de la souche KRL-AG2 de *T. harzianum* sont entreposées sur granulés de gel de silice à -20 °C à l'Université Cornell, à Ithaca, New York. Avant de commencer la production, on évalue la stabilité génétique et la contamination possible des cultures de départ. Les contaminants bactériens potentiels sont détectés par culture d'échantillons dilués sur gélose trypsique-soja, tandis que les contaminants fongiques sont détectés sur milieu PDA. Toutes les colonies de champignons et de bactéries sont purifiées et caractérisées à l'aide des méthodes classiques de typage ainsi qu'au moyen d'une analyse moléculaire de l'« empreinte génétique », s'il y a lieu. On détermine ensuite le rapport possible à des pathogènes bactériens connus. Une charge bactérienne supérieure à 10^7 UFC/g ou la présence d'un pathogène humain entraînera le rejet de la culture de départ, l'interruption du processus de production ou l'élimination du produit final. On rejette toute culture souche présentant une contamination fongique ou bactérienne.

2.1.3 Méthodes de détermination de la teneur en microorganismes du produit de fabrication utilisé pour la production de la préparation commerciale

Selon la formulation de la PC, on prélève trois à cinq échantillons dans chaque lot pendant la production et on les analyse (dénombrement des UFC) à l'aide d'une méthode normalisée pour déterminer la viabilité de la m.a. Le dénombrement des UFC permet d'estimer le nombre de propagules viables de la souche KRL-AG2 par unité de poids de l'échantillon (UFC/g p.s.). La garantie du produit, exprimée en UFC/g p.s. de produit, est déterminée après broyage, désagglomération et mélange des échantillons. On ne fait pas d'essais biologiques pour déterminer la puissance du produit final contre les pathogènes ciblés des semences.

2.1.4 Méthodes de dosage des impuretés d'importance dans le produit préparé

Le demandeur a fourni une courte description de la formation de substances étrangères pendant le procédé de fabrication. Comme les PC sont produites par culture du champignon sur un milieu de croissance (poudre ou granulés) dans des conditions non stériles et que les procédés de broyage et de mélange ne se déroulent pas non plus en milieu stérile, on s'attend à ce qu'il y ait contamination. Les procédures de contrôle de la qualité lors de la fabrication sont conçues à la fois pour réduire autant que possible la formation de composants indésirables et pour contrôler la concentration de ces composants dans le produit final. Ces procédures commencent avec le repiquage des cultures de départ, et se poursuivent jusqu'à l'étape du mélange des PC.

Selon le demandeur d'homologation, les seuls composants indésirables d'importance dans les PC sont d'autres microorganismes du sol, notamment d'autres champignons (*Trichoderma*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, levures) et des bactéries (streptomycètes), associés à un composant dans le milieu de culture. On a tout de même établi des normes relatives à la contamination pour éviter la présence, dans les PC, de concentrations de contaminants

microbiens pouvant nuire à l'efficacité des produits ou affecter leur stabilité à l'entreposage. Un procédé de détection des pathogènes humains est aussi en place. Les PC ne contiennent ni ne génèrent aucun pathogène humain ou animal connu.

Des procédures sont également en place pour surveiller la présence de contaminants microbiens dans les PC. On a examiné les données d'analyse de cinq lots des granulés de fongicide RootShield et de cinq lots de la poudre mouillable du fongicide RootShield Drench pour déterminer la présence éventuelle de contamination bactérienne et fongique et en évaluer le degré. Pour le fongicide RootShield en granulés, le dénombrement total de bactéries variait de $1,0 \times 10^5$ à $1,1 \times 10^6$ UFC/g et, pour le fongicide RootShield Drench en poudre mouillable, le résultat était 10 fois plus grand, soit $3,5 \times 10^6$ à $1,5 \times 10^7$ UFC/g. La contamination fongique s'est avérée dans tous les lots inférieure à $1,0 \times 10^5$ UFC/g. Un degré de contamination inférieur à ce seuil n'a pas été considéré significatif et n'a donc pas été consigné. On n'a pas procédé à l'identification taxonomique des colonies bactériennes et fongiques isolées.

Trois lots de production du phytoprotecteur biologique T-22G en granulés (formulation en granulés semblable aux granulés RootShield) et trois lots de T-22 Planter Box (formulation en poudre mouillable semblable à la poudre mouillable RootShield Drench) ont fait l'objet d'analyses microbiennes complémentaires qui ont révélé la présence de contaminants bactériens et fongiques. Dans les deux formulations, les populations bactériennes et fongiques moyennes étaient au total du même ordre de grandeur, soit de $3,1$ à $5,0 \times 10^7$ UFC/g. Ces degrés de contamination sont équivalents aux concentrations de microorganismes mesurées dans les produits de formulation, et la différence entre les populations moyennes de microorganismes dans ces derniers et dans le produit final n'était pas significative. Pour plus de précautions, on a envoyé les cultures microbiennes à l'Université Cornell, où l'on a confirmé qu'il s'agissait de microorganismes terricoles communs, notamment des espèces des genres *Trichoderma*, *Penicillium*, *Aspergillus* et *Streptomyces*, ainsi que des levures. On y a aussi détecté le champignon *Rhizopus*, espèce commune transportée dans l'air. Lors d'études antérieures, des échantillons de production avaient été analysés à l'Hôpital général de Rochester, New York, et on n'y avait pas trouvé de pathogène humain ou animal connu (comme *Escherichia coli*, *Staphylococcus*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Yersinia* sp., *Salmonella*, *Shigella*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus* et *Campylobacter*). Aucun pathogène n'a été détecté dans les cinq lots de production consécutifs analysés.

Les PC de biofongicides RootShield Drench en poudre mouillable et de RootShield en granulés ne contiennent aucun métabolite réputé toxique ou substance dangereuse connue. Cependant, le *T. harzianum* produit un grand nombre de métabolites secondaires, dont de nombreux types d'alkylpyrones, d'isonitriles, de polycétides, d'hétérocycles oxygénés, de terpénoïdes (sesquiterpènes et diterpènes) ainsi que de la dicétopipérazine, qui agissent soit comme agents antifongiques et antibactériens, soit comme régulateurs de croissance végétale. Parmi les nombreux métabolites antibactériens et antifongiques produits par le *T. harzianum*, seuls quelques-uns constituent un danger potentiel pour les préposés à l'application et pour les consommateurs des cultures alimentaires traitées. Il existe notamment une classe de polypeptides linéaires hydrophobes, appelés peptaïbols, qui sont produits par la majorité des espèces et souches de *Trichoderma*, y compris l'espèce *T. harzianum*. Les peptaïbols ont des propriétés

antibiotiques et comportent une proportion importante d'acide α,α-diméthyl-isobutyrique. Plusieurs peptaïbols, comme les trichorzianines, les trichokindines, les trichorzines, les trichorozines et les harzianines, ont un large éventail d'effets biologiques pertubateurs des membranes cellulaires, dont des effets *in vitro* comme l'hémolyse, le découplage de la phosphorylation oxydative dans les mitochondries hépatiques chez le rat, l'inhibition de la multiplication de différents types de cellules, un rôle d'agoniste dans le canal des myocytes cardiaques chez le ouaouaron, et la stimulation de la sécrétion de catécholamine dans les cellules chromaffines surrénaliennes. Dans une étude soumise par BioWorks Inc., le potentiel de l'AMLA en termes de production de ces peptaïbols a été étudié dans des conditions favorables à leur synthèse. Les résultats de cette étude ont clairement montré que la souche KRL-AG2 produit quatre peptaïbols, soit les trichorzines HA II et HA V et les harzianines HB I et HC XIII. Toutefois, aucun nouveau peptaïbol n'a été isolé et aucun effet nocif signficatif n'a été rapporté dans les études de toxicité et pathogénicité aiguës de niveau I. Il existe des méthodes analytiques permettant de détecter les peptaïbols dans les PC, mais on ne requiert pas de telles analyses dans le cadre du programme de contrôle de la qualité par le fabricant car on juge la possibilité d'effets toxicologiques nocifs trop faible, et les coûts associés à l'analyse trop élevés pour justifier une surveillance régulière.

Il n'existe pas d'autres mycotoxines connues produites par le *T. harzianum*. Dans un document publié, on attribuait la production de certaines trichotécènes (c.-à-d. la trichodermine et le trichodermol), qui sont des mycotoxines, à un champignon identifié comme étant le *T. harzianum*, mais on a estimé ultérieurement qu'il s'agissait d'un isolat mal identifié de *T. atroviride*. Le *T. atroviride* n'est pas étroitement apparenté au *T. harzianum*; il s'apparente plutôt au *T. viride*, que l'on sait produire ces mycotoxines.

2.1.5 Méthodes visant à prouver l'absence de pathogènes pour l'humain et les mammifères

Comme on l'a mentionné ci-dessus, le programme d'assurance de la qualité mis en place par le demandeur d'homologation pour la production des PC RootShield prévoit la destruction du lot contaminé en cas de détection d'un pathogène humain ou animal connu, quel qu'il soit, pendant le processus de fabrication.

2.1.6 Méthodes de détermination de la stabilité à l'entreposage et de la durée de vie du microorganisme

On a soumis des lots représentatifs des formulations RootShield en granulés et RootShield Drench en poudre mouillable à des essais de stabilité à l'entreposage. Des échantillons du produit final ont été entreposés à l'obscurité, à des températures de 0 à 6 °C, sauf pour de brèves périodes, lorsque les échantillons ont été récupérés à des fins d'analyse. Aucun autre facteur environnemental n'a été régulé ou contrôlé. On a procédé au dénombrement des colonies fongiques viables sur gélose (UFC) tous les trois mois, mais seuls les résultats des derniers essais pour chacun des échantillons ont été présentés. Dans la majorité des 14 à 19 lots testés, les normes minimales en matière de nombre d'UFC ont été respectées, et ce, pour une durée d'entreposage allant jusqu'à 12 mois. Selon les directives actuelles en ce qui concerne l'emploi et

l'entreposage, il est recommandé d'entreposer le produit à des températures inférieures à 5 °C et d'utiliser le produit à l'intérieur d'un délai de 12 mois. Ces recommandations concordent avec les renseignements sur l'entreposage du produit.

2.2 Méthodes d'analyse et de quantification des résidus (viables ou non) du microorganisme actif et de ses métabolites pertinents

Tel que mentionné à la section 2.1.4, quatre types de peptaïbols ont été isolés à partir de cultures de *T. harzianum* souche KRL-AG2 poussant dans des conditions favorables à la production de ces substances chimiques. Comme ces quatre types de peptaïbols ont également été isolés à partir d'une culture d'une souche sauvage de *T. harzianum*, il est probable que les cultures pratiquées en sol non traité soient exposées à ces peptides antibiotiques. Par conséquent, les aliments provenant des cultures traitées avec la souche KRL-AG2 ne seraient considérés falsifiés que si les résidus de peptaïbols sur les cultures traitées dépassaient les résidus contaminant les cultures non traitées. Cependant, la probabilité que les résidus de peptaïbols attribuables au traitement excèdent les concentrations présentes à l'état naturel est faible. Le poids brut absolu des peptaïbols issus de la souche KRL-AG2 était légèrement supérieur à celui mesuré pour la souche sauvage, mais il n'a pas été ajusté en fonction du p.s. de mycélium; la pertinence de cette observation peut donc être mise en doute. Étant donné que le taux de croissance a une incidence directe sur la production de peptaïbols et que la souche KRL-AG2 a été sélectionnée pour sa capacité à coloniser rapidement les racines des végétaux, il n'existe pas de preuve directe indiquant que la souche KRL-AG2 contenue dans les produits RootShield forme davantage de peptaïbols que les souches sauvages. De plus, la souche KRL-AG2 ne fabrique pas de nouveaux peptaïbols comparativement à la souche sauvage.

Puisque les études de toxicité et de pathogénicité aiguës de niveau I n'ont pas révélé d'effets nocifs significatifs et qu'il n'existe pas de données suggérant clairement que la souche KRL-AG2 engendre des peptaïbols en quantités supérieures à ce que produisent les isolats naturels de *T. harzianum* dans l'environnement, il n'est pas nécessaire d'établir une limite maximale de résidus (LMR) pour la souche KRL-AG2 de *T. harzianum* Rifai. Par conséquent, il n'est pas jugé nécessaire de présenter une méthode pour quantifier les résidus de la souche KRL-AG2 de *T. harzianum* Rifai dans les aliments destinés à la consommation humaine ou animale.

Pour autant qu'on sache, il n'existe pas de LMR pour cet AMLA et ses métabolites dans d'autres pays; la United States Environmental Protection Agency (EPA) a accordé une exemption en ce qui concerne l'établissement d'une LMR pour la souche KRL-AG2 dans toutes les denrées.

Les méthodes analytiques visant à détecter les résidus viables de la souche KRL-AG2 dans les tissus humains et animaux requièrent le mélange des tissus et la récupération sur un milieu de culture sélectif au *Trichoderma*, enrichi d'antibiotiques et de fongicides, spécialement conçu pour permettre uniquement la croissance de colonies de la souche KRL-AG2.

3.0 Effets sur la santé humaine et animale

Voir le sommaire des données tirées d'études de toxicité et de pathogénicité au tableau 1 de l'annexe I.

3.1 Résumé d'ensemble sur la toxicité et l'infectiosité

La documentation soumise par la société BioWorks Inc. à l'appui de l'homologation du fongicide de qualité technique RootShield et de ses PC, RootShield Drench en poudre mouillable et RootShield en granulés, dont la m.a. est la souche KRL-AG2 du champignon *T. harzianum*, a été examinée du point de vue de l'innocuité de ces produits pour la santé humaine et animale. On a jugé qu'elle était suffisamment complète pour permettre d'arrêter une décision en matière d'homologation. Le demandeur a fourni des données de caractérisation de la m.a. ainsi que des renseignements sur les procédés de fabrication et le contrôle de la qualité permettant de répondre aux préoccupations liées à la santé et à la sécurité humaines que l'on pouvait avoir au sujet de la souche KRL-AG2 de *T. harzianum* et des contaminants bactériens et fongiques introduits lors de la production. Bien que des données prouvent que la souche KRL-AG2 peut produire des peptaïbols dans des conditions favorisant la production de ces peptides antibiotiques (voir les sections 2.1.4 et 2.2), les quantités générées n'étaient pas significativement différentes de celles produites par une souche sauvage du *T. harzianum*, et aucun nouveau peptaïbol n'a été isolé.

Les études toxicologiques, soit l'administration de la souche KRL-AG2 du *T. harzianum* à des rats par voie orale ou par intraveineuse, n'ont révélé aucun indice de toxicité ni de pathogénicité. On a constaté une splénomégalie chez les animaux ayant reçu une injection intraveineuse, qu'on a considéré être une réaction normale à l'injection d'une dose élevée d'un agent étranger. L'instillation de l'organisme à l'essai dans la trachée n'a entraîné l'apparition d'aucun signe évident de pathogénicité attribuable au traitement. On a observé des lésions dans les voies respiratoires des animaux mâles et femelles (poumons tachetés, distendus ou les deux). On sait que l'instillation directe d'un grand nombre de microorganismes, en particulier des champignons, dans les poumons peut causer des lésions, mais les lésions macroscopiques constatées dans le cadre de cette étude semblaient être typiques d'une réponse immunitaire normale chez des animaux bien portants. L'ARLA a accepté la demande d'exemption en matière d'études de toxicité cutanée aiguë et d'irritation cutanée primaire pour les PC RootShield Drench en poudre mouillable et RootShield en granulés pour diverses raisons : absence d'effets nocifs chez les travailleurs participant à la fabrication de ces produits; caractère non toxique et usage commercial répandu des ingrédients de formulation inertes (produits de formulation); faible toxicité et pathogénicité nulle du microorganisme actif d'après les essais de toxicité aiguë par voies orale, pulmonaire et intraveineuse. On a relevé une irritation minime des yeux chez les lapins traités avec une préparation purifiée de l'organisme à l'essai; toutefois, les PC RootShield contiennent des produits de formulation que l'on sait être légèrement irritants pour les yeux.

Vu l'absence d'effets nocifs significatifs dans les études de risque maximal de niveau I, on n'exige, dans le cas de la souche KRL-AG2 du *T. harzianum*, aucune étude de niveau supérieur de la toxicité et de la pathogénicité comportant des essais de toxicité chronique et subchronique, d'oncogénicité, de mutagénicité ou de tératogénicité. Par ailleurs, aucune préoccupation d'ordre

toxicologique n'est associée aux produits de formulation entrant dans la composition de RootShield Drench en poudre mouillable et de RootShield en granulés.

La m.a. microbienne, soit la souche KRL-AG2 du *T. harzianum*, n'est pas réputée être un pathogène humain ou un perturbateur du système endocrinien. Les études de toxicité et de pathogénicité chez les rongeurs soumises par le demandeur indiquent qu'après exposition par plusieurs voies, le système immunitaire est toujours indemne et capable de traiter et d'éliminer la m.a. Par conséquent, on ne connaît ni ne prévoit aucun effet nocif sur les systèmes immunitaire et endocrinien.

3.2 Signalement de cas d'hypersensibilité

On n'a soumis aucune étude de sensibilisation cutanée concernant la m.a. microbienne, à savoir la souche KRL-AG2 de *T. harzianum*, car l'ARLA n'exige aucune étude portant sur les réactions d'hypersensibilité à l'appui de la demande d'homologation des AMLA. Les études de sensibilisation cutanée ne sauraient remplacer le signalement de cas d'hypersensibilité survenant après l'homologation.

Au cours des activités de recherche et de développement des produits, et lors des applications effectuées aux États-Unis, où la m.a. est homologuée depuis 1990, des personnes ont sans doute été exposées au mycélium et aux spores de l'AMLA, et ce, fort probablement par voie cutanée et par inhalation. Or, jusqu'à présent, aucun rapport ni indice quel qu'il soit n'a laissé croire à l'existence de cas d'hypersensibilité à ce champignon. Toutefois, étant donné que la plupart des microorganismes contiennent des substances qui provoquent des réactions d'hypersensibilité chez les humains, la souche KRL-AG2 de *T. harzianum* est considérée comme un sensibilisant potentiel. Par conséquent, l'inscription de mise en garde SENSIBILISANT POTENTIEL doit figurer dans l'aire d'affichage principale de l'étiquette du RootShield de qualité technique et sur celle de ses PC. Par ailleurs, pour limiter la sensibilisation cutanée potentielle chez les travailleurs et les personnes manipulant le produit, on exigera également le port d'un équipement de protection individuelle (EPI). Comme condition à l'homologation, on s'attend à ce que le demandeur signale tout signe d'hypersensibilité et tout cas d'effets nocifs sur la santé chez les travailleurs, les préposés à l'application et les personnes exposées occasionnellement qui pourraient se manifester après l'homologation. Le signalement des incidents doit fournir :

- la description de l'AMLA et de sa formulation;
- la fréquence, la durée et les voies d'exposition à la matière;
- les observations cliniques;
- tout autre renseignement pertinent.

3.3 Effets sur la santé humaine et animale découlant de l'exposition à la matière active ou aux impuretés qu'elle contient

3.3.1 Évaluation de l'exposition professionnelle et occasionnelle

L'ARLA ne s'attend pas à ce que l'exposition professionnelle pose un risque indu pour la santé puisque la souche KRL-AG2 de *T. harzianum* est faiblement toxique et pathogène et que l'on suppose que l'utilisateur tiendra compte des mises en garde inscrites sur l'étiquette des fongicides RootShield Drench en poudre mouillable et RootShield en granulés.

Il existe un potentiel d'exposition par la peau, par les yeux et par inhalation pour les personnes manipulant des pesticides, la plus importante source d'exposition des travailleurs demeurant le contact cutané. Étant donné que la peau, lorsque intacte, agit comme barrière naturelle à l'invasion du corps humain par les microbes, l'absorption cutanée ne peut se produire que si la peau est coupée, si le microbe est un pathogène muni de mécanismes lui permettant de traverser la peau ou de l'infecter, ou si des métabolites pouvant être absorbés par la peau sont produits. La souche KRL-AG2 de *T. harzanium* n'est pas réputée être un pathogène humain ou produire des métabolites qui sont absorbés par la peau. Vu l'absence d'effets nocifs dans l'étude sur l'exposition par voie intraveineuse, l'ARLA estime que l'absorption, dans le corps, de la souche KRL-AG2 de *T. harzianum* par des coupures cutanées ne pose pas de risque pour la santé. En outre, le pesticide n'a pas causé de problèmes cutanés (y compris des réactions d'hypersensibilité) chez les travailleurs ayant subi une exposition cutanée fréquente à la souche KRL-AG2. Toutefois, comme les études d'exposition cutanée menées sur une autre souche de *T. harzianum* Rifai homologuée par l'EPA (la souche T-39) ont révélé un potentiel d'irritation cutanée et de réactions d'hypersensibilité à retardement après contact avec le produit, l'ARLA exige que certaines restrictions et mesures d'atténuation des risques figurent sur l'étiquette pour protéger les populations susceptibles d'être les plus exposées à la souche KRL-AG2, par suite de l'application en serre des fongicides RootShield Drench en poudre mouillable et RootShield en granulés. Les personnes manipulant les pesticides peuvent réduire cette exposition si elles portent une chemise à manches longues, un pantalon, des gants imperméables à l'eau, des chaussettes et des chaussures.

On a constaté une irritation oculaire minime chez les lapins exposés à une préparation en poudre de la souche KRL-AG2 pure. Cependant, comme les PC RootShield contiennent toutes deux des ingrédients (produits de formulation) qui sont des irritants pour les yeux, les travailleurs peuvent résoudre adéquatement ce problème en portant des lunettes protectrices.

Bien que les études soumises à propos de la souche KRL-AG2 indiquent un léger risque pour les poumons, l'exposition par inhalation n'est pas préoccupante si les préposés à l'application et les travailleurs retournant sur les lieux peu après l'application portent le masque antipoussières ou le masque filtrant nécessaire. Par conséquent, les personnes qui manipulent les pesticides doivent porter un appareil respiratoire muni d'un filtre à poussières et contre le brouillard de pulvérisation de type NIOSH (National Institute of Occupational Safety and Health) N-95, P-95 ou R-95 pour réduire l'exposition. L'étiquette des PC devront aussi prescrire un délai de sécurité de quatre heures avant le retour des travailleurs et autres personnes dans les serres traitées.

L'étiquette ne permet pas les applications sur le gazon ni dans les aires résidentielles ou récréatives. Comme les sites d'utilisation sont agricoles (serres), l'exposition des nourrissons et des enfants à l'école, à la maison et à la garderie devrait être minime ou nulle. Par conséquent, on prévoit un risque négligeable ou nul pour la santé des nourrissons et des enfants.

4.0 Résidus

4.1 Sommaire des données sur les résidus

Même si le *T. harzianum* est un organisme très répandu dans la plupart des milieux terrestres, la présence des espèces de *Trichoderma* est rarement signalée sur les plantes vivantes. Il est donc probable que le profil d'emploi proposé sur les denrées ne donne lieu qu'à une faible exposition par voie alimentaire ou à de faibles concentrations de résidus sur les denrées traitées, au moment de la récolte. De plus, il est probable que tout résidu du microorganisme actif sera éliminé lors du lavage, de l'épluchage, de la cuisson et de la transformation des denrées. Même si ces résidus ne sont pas enlevés, il est peu probable que l'exposition à l'agent microbien par voie alimentaire pose un risque indu pour les consommateurs car aucun effet nocif n'a été signalé aux doses correspondant au danger maximal dans l'étude de toxicité aiguë par voie orale de niveau I qui a été présentée.

L'ARLA n'a pas exigé d'essais de toxicité chronique et subchronique par voie alimentaire puisque l'étude de toxicité aiguë par voie orale de niveau I a révélé une faible toxicité et une pathogénicité nulle du microorganisme actif. Vu la faible toxicité de l'AMLA et le faible potentiel d'exposition à celui-ci, le risque chronique associé à l'exposition par voie alimentaire ne suscite pas de préoccupation pour les sous-populations sensibles, comme les nourrissons et les enfants.

L'exposition par voie alimentaire aux métabolites secondaires produits par la souche KRL-AG2 de *T. harzianum* est possible, même si aucune partie aérienne des plants de tomates et de concombres ne sera traitée directement avec l'AMLA. Le champignon qui se développe activement dans le substrat de croissance en serre produit des métabolites qui peuvent être assimilés par les racines des plantes et se retrouver dans les concombres et les tomates; cependant aucune donnée sur les résidus dans les cultures n'a été soumise en ce qui concerne les métabolites secondaires qui peuvent susciter des préoccupations pour la santé humaine, plus particulièrement les peptaïbols antibiotiques. Toutefois, compte tenu du long historique d'utilisation en toute sécurité des produits contenant cette m.a. aux États-Unis, comme en témoigne l'absence de rapports d'effets nocifs, les concentrations de résidus de ces métabolites sont probablement assez faibles dans les cultures, au moment de la récolte, pour ne pas causer d'inquiétudes en matière d'exposition par voie alimentaire.

Le *T. harzianum* n'est généralement pas réputé être un microorganisme aquatique. On ne s'attend donc pas à ce qu'il prolifère dans les habitats aquatiques si ceux-ci subissent une exposition directe ou indirecte par accident (par exemple, à cause des eaux de ruissellement provenant d'une serre traitée). En outre, on ne considère pas que le *T. harzianum* constitue un risque pour l'eau potable. D'ailleurs, cette espèce ne fait pas partie des indicateurs potentiels de contamination

microbienne ou de pathogénicité directe recherchés dans le cadre de la surveillance de l'eau potable. La percolation dans le sol et le traitement de l'eau potable par les municipalités réduisent la possibilité d'un transfert significatif de résidus à l'eau potable. Par conséquent, le potentiel d'exposition à cet AMLA par l'eau potable et les risques connexes sont probablement minimes, voire inexistants.

4.2 Limite maximale de résidus

Les études de toxicité et de pathogénicité aiguës de niveau I n'ont pas révélé d'effets nocifs significatifs, et il n'existe pas de données définitives laissant supposer que l'AMLA produirait des métabolites secondaires préoccupants pour la santé en quantités supérieures à ce que produisent les isolats de *T. harzianum* présent à l'état naturel dans l'environnement. Par conséquent, il n'est pas nécessaire d'établir une LMR pour la souche KRL-AG2 de *T. harzianum* Rifai en application de l'alinéa 4*d*) de la *Loi sur les aliments et drogues* (falsification des aliments), aux termes de l'article B.15.002 du titre 15 du *Règlement sur les aliments et drogues*.

L'EPA a accordé une exemption en ce qui concerne l'établissement d'une LMR pour la souche KRL-AG2 et pour une autre souche utilisée à des fins de lutte biologique, la souche T-30 de *T. harzianum* Rifai. En outre, le Codex ne contient de LMR pour aucune souche de *T. harzianum*.

5.0 Devenir et comportement dans l'environnement

Aucune donnée sur le devenir dans l'environnement (niveaux II ou III) n'a été jugée nécessaire car l'utilisation qui est proposée de cet AMLA ne devrait entraîner aucun effet nocif significatif chez la plupart des organismes non ciblés.

5.1 Résumé sur le devenir et le comportement en milieu terrestre

5.1.1 Études sur le terrain

BioWorks Inc. a soumis une étude d'hivernage portant sur la persistance et la dissémination du *T. harzianum* souche KRL-AG2 dans des champs ensemencés de maïs et de soja traités. On a procédé à la culture selon les pratiques agronomiques normales, mais sans recourir à des fongicides chimiques classiques. Des débris de racines et des échantillons de sol ont été prélevés à proximité de la zone racinaire de plants traités et non traités à l'automne et au printemps suivants. Les échantillons ont été analysés afin d'y repérer la présence de la souche KRL-AG2 de *T. harzianum* ainsi que d'autres espèces de *Trichoderma*. Après les essais du printemps, on a semé dans ces parcelles du maïs et du soja non traités, et la culture s'est déroulée comme l'année précédente. On a récolté les plants à maturité, et on a analysé des échantillons de leurs racines pour déterminer s'ils renfermaient la souche KRL-AG2 de *T. harzianum* ou d'autres espèces de *Trichoderma*.

On a détecté la souche KRL-AG2 du *T. harzianum* dans le sol recueilli dans les parcelles traitées et non traitées au printemps. La souche a donc survécu à l'hiver. Le fait qu'on l'ait isolée à partir

d'échantillons de sol prélevés dans les parcelles non traitées semble indiquer une dissémination rapide de la m.a. dans le sol. Il a également été établi que les populations survivantes de la souche KRL-AG2 de *T. harzianum* avaient colonisé dans une certaine mesure les racines des cultures subséquentes, mais sans avoir d'effet, nocif ou bénéfique, sur ces cultures.

5.1.2 Conclusions

Les espèces de *Trichoderma* sont très répandues dans le sol; elles croissent dans la terre, le bois pourri ou d'autres matières végétales, et pour ainsi dire dans tous les milieux terrestres. Ces champignons produisent beaucoup de conidies regroupées en masses de spores mucoïdes qui peuvent être disséminées par l'eau et par la faune terricole comme les insectes et les lombrics. Son abondance en fonction des autres espèces de *Trichoderma* se caractérise par une présence plus marquée sous les climats tempérés; il est toutefois clair, de par les études effectuées sur le terrain et la documentation publiée, que des souches tolérantes au froid existent. Il est également évident que la souche KRL-AG2 de *T. harzianum* pourra se disséminer et persister dans l'environnement au Canada après y avoir été introduit. On ne s'attend cependant pas à ce qu'il entraîne des effets nocifs car, même s'il peut s'attaquer à d'autres champignons, le *T. harzianum* est un organisme saprophyte. De plus, la souche KRL-AG2 de *T. harzianum* est utilisée aux États-Unis depuis de nombreuses années sans qu'on ait signalé d'effets nocifs sur l'environnement.

6.0 Effets sur les espèces non ciblées

Voir les résumés aux tableaux 2 et 3 de l'annexe I.

6.1 Effets sur les organismes terrestres

Les justifications présentées permettent de lever toutes les exigences en matière d'essais écotoxicologiques en milieu terrestre. Ces justifications étaient fondées sur l'exposition minime liée aux profils d'emploi proposés pour les produits, sur le fait que le *T. harzianum* est très répandu et sur l'absence de toute mention d'effets nocifs dans la documentation publiée. Même si des biotypes agressifs du *T. harzianum* ont déjà été identifiés comme étant les agents responsables de la « moisissure verte » dans les champignonnières commerciales, on considère que ce risque de maladie est faible si on n'y utilise pas les produits visés et si les matières végétales traitées ne sont pas employées comme substrat de croissance par les producteurs de champignons.

Une épreuve de toxicité orale aiguë réalisée sur des oiseaux a été soumise, mais refusée. Cependant, on ne considère pas ces données nécessaires pour évaluer les risques associés à la souche KRL-AG2 de *T. harzianum* puisqu'on s'attend à ce que le potentiel d'exposition par voie orale à cet organisme soit minime, le produit étant utilisé en serre.

Les produits de formulation identifiés dans les fongicides RootShield Drench en poudre mouillable et RootShield en granulés ne posent pas de risque pour les organismes terrestres non ciblés si les produits sont utilisés aux concentrations et doses d'application proposées.

6.2 Effets sur les organismes aquatiques

Les justifications présentées permettent de lever toutes les exigences en matière d'essais écotoxicologiques en milieu aquatique. Ces justifications étaient fondées sur l'exposition minime liée aux profils d'emploi proposés pour les produits, sur le fait que le *T. harzianum* est très répandu, sur l'absence de toute mention d'effets nocifs dans la documentation publiée et sur l'incapacité du *T. harzianum* à s'établir dans les milieux aquatiques non pollués.

Les produits de formulation identifiés dans les fongicides RootShield Drench en poudre mouillable et RootShield en granulés ne posent pas de risque pour les organismes aquatiques si les produits sont utilisés aux concentrations et doses d'application proposées.

6.3 Caractérisation des risques

Les espèces de *Trichoderma* sont très répandues dans le sol; elles croissent dans la terre, le bois pourri ou d'autres matières végétales, et pour ainsi dire dans tous les milieux terrestres. L'étude sur le terrain soumise par le demandeur d'homologation montre que la souche KRL-AG2 de *T. harzianum* s'est disséminée rapidement dans l'environnement et y est demeurée après y avoir été introduite. Ces constats concordent avec la documentation publiée; par conséquent, la m.a., produit de la fusion de deux souches auxotrophes, s'est comportée de la manière attendue chez une espèce de *Trichoderma*. Du point de vue de la protection de l'environnement, certains des renseignements et des données publiés soulèvent quelques préoccupations. Le mode d'action du champignon est associé à des effets potentiels non désirés chez des microorganismes du sol utiles comme les mycorhizes. En outre, les métabolites régulateurs de croissance végétale et les enzymes cellulolytiques produits par cette espèce pourraient nuire à des végétaux non ciblés. Un bon nombre de ces préoccupations d'ordre environnemental ont toutefois été atténuées par les profils d'emploi qui sont proposés des fongicides RootShield Drench en poudre mouillable et RootShield en granulés, ainsi que par l'absence de toute mention d'effets nocifs dans la documentation publiée.

La souche KRL-AG2 de *T. harzianum* ne sera appliquée que sur des cultures alimentaires et non alimentaires en serre, ce qui réduit considérablement le potentiel d'exposition. Il faut dire également que peu d'effets nocifs ont été signalés, les cas recensés ayant surtout trait au rôle du *T. harzianum* comme agent étiologique de la « moisissure verte ». Bien qu'on ignore le pouvoir pathogène de la m.a. pouvant causer la moisissure verte, les fongicides RootShield Drench en poudre mouillable et RootShield en granulés ne seront pas utilisés dans des champignonnières. En outre, un énoncé sur l'étiquette interdira aux serriculteurs de distribuer les matières végétales traitées aux producteurs de champignons pour utilisation comme substrat de croissance. Les quelques autres cas répertoriés concernaient les métabolites régulateurs de croissance végétale. On a bien fait état d'effets phytotoxiques dans certaines études; cependant, celles-ci portaient sur des concentrations beaucoup plus grandes que celles auxquelles on s'attend en milieu naturel. Il est peu probable que les végétaux non ciblés subissent des effets toxiques étant donné que le *T. harzianum* sera appliqué dans les serres.

En se fondant en grande partie sur la documentation publiée, le demandeur d'homologation a soumis des demandes d'exemption aux exigences relatives à l'écotoxicologie. Les organismes non ciblés ne subiront qu'une exposition très légèrement accrue au *T. harzianum* à cause de l'utilisation des fongicides RootShield Drench en poudre mouillable et RootShield en granulés. Les produits de formulation se trouvant dans les PC ne présentent pas de risque environnemental lorsque les fongicides sont utilisés aux concentrations et aux doses d'application proposées. Par conséquent, les fongicides RootShield Drench en poudre mouillable et RootShield en granulés ne devraient présenter qu'un faible risque pour l'environnement s'ils sont employés conformément au mode d'emploi indiqué sur l'étiquette. L'énoncé suivant devra cependant figurer dans l'aire d'affichage secondaire de l'étiquette, sous la rubrique PRÉCAUTIONS ENVIRONNEMENTALES :

> « Ne pas employer les matières végétales traitées comme substrat de croissance dans les champignonnières. »

7.0 Efficacité

7.1 Efficacité contre des maladies particulières

Les fongicides RootShield Drench en poudre mouillable et RootShield en granulés contiennent 1,15 % (1×10^7 UFC/g) de la souche KRL-AG2 de *T. harzianum* Rifai. On propose de les utiliser pour enrayer les maladies des racines causées par les champignons *Pythium*, *Rhizoctonia* et *Fusarium* dans les cultures de tomates, de concombres et de plantes ornementales en serre. Les produits RootShield peuvent être utilisés seuls ou en même temps que certains fongicides chimiques. On allègue que les fongicides RootShield offrent une meilleure protection du système racinaire des cultures, soit de l'établissement jusqu'à la récolte.

Les étiquettes proposées indiquent que la poudre mouillable de fongicide RootShield Drench doit être mise en suspension dans un volume d'eau suffisant pour bien humidifier le substrat de croissance ou le sol, en évitant cependant qu'il y ait ruissellement ou drainage trop important. Elle doit être appliquée à raison de 6 g de produit/m^2 de surface cultivée (en suspension dans 2,5 à 5 L d'eau) immédiatement après l'ensemencement ou la plantation des boutures (racinées ou non) à des fins de multiplication, et à raison de 15 g de produit/m^2 de surface cultivée (en suspension dans 10 L d'eau) ou de 150 g/1 000 pots (en suspension dans 100 L d'eau) à des fins de culture. Le traitement peut être répété toutes les 10 à 12 semaines ou après le rempotage des plants dans des contenants plus grands, cette fois en utilisant la moitié de la dose. Les bulbes de plantes ornementales doivent être trempés dans une suspension de 120 g de RootShield Drench en poudre mouillable/L d'eau avant d'être mis en terre. Les granulés de fongicide RootShield doivent être incorporés au terreau ou au sol employé en serriculture, à la dose de 750 g/m^3 de terreau non compacté.

On a examiné les résultats d'un total de 28 essais d'efficacité portant sur des serricultures de plantes ornementales, de tomates, de concombres, d'oignons, d'aubergines et de poivrons. Dans la plupart des cas, le terreau était traité avec la poudre mouillable RootShield Drench ou les granulés RootShield, selon le mode d'emploi proposé, puis infesté par les pathogènes ciblés, soit

le *Pythium*, soit le *Rhizoctonia*. Dans trois essais en serre, l'efficacité de RootShield Drench en poudre mouillable a été déterminée pour ce qui est de la lutte contre le *Pythium*, le *Fusarium* et le *Rhizoctonia* sur les tomates et les concombres produits en culture hydroponique sur de la laine minérale. L'intervalle entre le traitement et l'inoculation variait généralement entre 0 et 10 j. Dans le cas des essais sur le *Fusarium*, les semis ont été cultivés en serre, avec traitement au RootShield, puis transplantés dans des sites infestés au champ. L'évaluation des plants a porté sur l'apparition de signes de maladie, par exemple plants morts ou présence de pourridié, et sur des paramètres de la croissance comme la hauteur des plants, le poids frais (p.f.), le p.s. des parties aériennes ou des racines ainsi que la qualité commerciale des plantes à fleurs. Pour ce qui est des légumes, l'évaluation a porté sur leur qualité et leur quantité. Les essais ont été réalisés à raison de 60 à 150 g de poudre mouillable RootShield Drench dans 100 L d'eau ou de 560 à 600 g de granulés RootShield par m^3 de terreau.

En règle générale, on a constaté que les fongicides RootShield ont un effet global positif sur la santé des plants, même si les variables mesurées n'en témoignaient pas toujours de manière évidente. Compte tenu du degré d'efficacité enregistré lors de ces essais, il serait plus approprié de parler de *suppression* plutôt que de protection phytosanitaire. Dans les essais sur le *Rhizoctonia*, l'utilisation du fongicide RootShield Drench en poudre mouillable a amélioré la survie des plants (dans une proportion de 8 à 44 %) comparativement aux témoins inoculés, et a permis un accroissement du poids ainsi qu'une légère augmentation de la qualité des racines et des pousses, dans le cas des plantes ornementales. Dans les essais sur le *Pythium*, les fongicides RootShield a donné une augmentation du p.s. des racines et du p.f. des plants chez certaines variétés ornementales, et a amélioré le rendement des cultures de tomates. Les essais sur le *Fusarium* ont révélé une réduction de 25 à 57 % de l'incidence du pourridié fusarien et une hausse du rendement chez les tomates cultivées au champ et traitées avec RootShield avant leur transplantation. Un ou deux arrosages des blocs de laine minérale avec RootShield à raison de 75 à 150 g/100 L ont permis une suppression significative des maladies des racines causées par le *Pythium* et le *Fusarium* chez les tomates et les concombres en culture hydroponique. De plus, le fongicide utilisé seul sur les blocs de laine minérale a stimulé la croissance des racines. Un essai portant sur diverses méthodes de traitement a montré un accroissement du rendement chez les oignons transplantés après avoir été trempés dans une suspension du fongicide RootShield Drench en poudre mouillable.

Les données soumises sur les fongicides RootShield Drench en poudre mouillable et RootShield en granulés permettent de croire que ces produits sont capables de supprimer les maladies causées par le *Pythium*, le *Rhizoctonia* et le *Fusarium*, et qu'ils pourraient stimuler la croissance végétale, en particulier celle des racines, même en l'absence des pathogènes ciblés. Les essais d'efficacité ont donné des résultats variables. Dans certains cas, on a observé une suppression significative des maladies alors que, dans d'autres, les fongicides restaient sans effet sur les pathogènes. Cette variabilité est typique des agents microbiens; elle est attribuable à leur interaction avec d'autres organismes et avec le sol. Néanmoins, les données positives étaient suffisantes pour confirmer les allégations de suppression de ces trois pathogènes dans les serricultures de tomates, de concombres et de plantes ornementales.

Plusieurs facteurs semblent favoriser les produits RootShield et en accroître l'efficacité, notamment le moment de l'application. On a remarqué qu'il fallait appliquer le produit bien avant l'arrivée des pathogènes. En pratique, cela signifie qu'il convient de traiter le terreau avec RootShield de 7 à 14 j avant d'y semer ou d'y transplanter quoi que ce soit, ou encore de mouiller les semis dès que possible afin de favoriser la colonisation des racines avant l'infection par les pathogènes.

Les données fournies confirment que les fongicides RootShield Drench en poudre mouillable et RootShield en granulés sont efficaces pour supprimer le *Rhizoctonia*, le *Pythium* et le *Fusarium* sur les tomates et les concombres, ainsi que le *Rhizoctonia* et le *Pythium* sur les plantes ornementales. L'utilisation du produit contre le *Fusarium* sur les plantes ornementales se limite au mouillage et au trempage des bulbes (120 g/L).

L'utilisation du fongicide RootShield Drench en poudre mouillable à l'état sec (poudre non diluée) sur les boutures de plantes ornementales ou sur les racines nues des transplants n'a pas été évaluée, et elle n'est pas acceptée. Bien qu'aucun essai n'ait porté sur l'efficacité des granulés RootShield appliqué à raison de 750 g/m^3 de terreau, les résultats des essais avec une dose de 560 à 600 g/m^3 de terreau corroborent l'efficacité de la dose d'application proposée, soit 750 g/m^3. Cette dose correspond davantage à celle de l'étiquette approuvée par l'EPA et, de plus, la plupart des cultivateurs trouvent plus facile d'effectuer le mélange à raison de 750 g/m^3 de terreau ou de sol.

D'autres données ont prouvé l'efficacité de la poudre mouillable RootShield Drench appliquée à raison de 75 à 150 g/L d'eau contre le *Pythium* et le *Fusarium* sur les tomates et les concombres en culture hydroponique sur laine minérale. Des modes d'emploi spécifiques ont été ajoutés à l'étiquette pour la production hydroponique de légumes en serre.

7.2 Toxicité et pathogénicité pour les végétaux ciblés ou les produits dérivés des végétaux ciblés

Les essais n'ont révélé aucun effet phytotoxique des produits RootShield en l'absence de pathogènes dans le sol. Il est impossible d'évaluer toutes les variétés de plantes ornementales par des essais de recherche; par conséquent, on recommande de faire un essai sur un petit échantillon de chaque nouvelle variété avant d'utiliser RootShield à une échelle commerciale.

7.3 Compatibilité avec les pratiques de lutte actuelles, y compris la lutte intégrée

On n'a soumis aucune donnée établissant la compatibilité des produits RootShield avec les fongicides et insecticides chimiques couramment utilisés dans les serres. Il faut faire preuve de prudence lorsqu'on utilise les fongicides RootShield en alternance avec des fongicides chimiques. Les méthodes d'application des fongicides RootShield doivent être perfectionnées avant de pouvoir être utilisées dans le cadre d'un programme de lutte intégrée (LI), mais on prévoit que ces produits contribueront à la gestion des maladies des racines sans nuire aux autres outils de LI, comme les insectes bénéfiques et les pratiques sanitaires.

7.4 Contribution à la réduction des risques

Les produits biologiques RootShield contribuent à la suppression et à la gestion des maladies des plantes qui pourraient autrement exiger des applications fréquentes de fongicides chimiques pour obtenir une protection phytosanitaire adéquate. Ils permettront ainsi de diminuer le recours aux fongicides dans les serres, ce qui se traduira par une réduction de l'exposition de l'environnement, des aliments et des travailleurs.

7.5 Renseignements sur l'acquisition, réelle ou potentielle, de la résistance

Le microorganisme actif dans les produits RootShield peut supprimer les pathogènes végétaux par l'un ou l'autre des mécanismes suivants ou plusieurs d'entre eux : le mycoparasitisme, la production de toxines, la compétence et la concurrence dans la rhizosphère et la production d'enzymes de suppression des pathogènes. En règle générale, il colonise tout le système racinaire de la plante et protège les racines contre les maladies. Compte tenu de son mode d'action varié, il ne devrait pas favoriser l'acquisition de la résistance chez les pathogènes ciblés.

7.6 Conclusions

L'ARLA accepte l'utilisation des fongicides RootShield Drench en poudre mouillable et RootShield en granulés pour la suppression du *Pythium*, du *Rhizoctonia* et du *Fusarium* sur les plantes ornementales, les tomates et les concombres cultivés en serre. Les doses acceptables figurant à l'étiquette sont de 6 g de poudre mouillable RootShield Drench par m^2, en solution dans 2,5 à 5 L d'eau (à l'étape de la multiplication), de 150 g de poudre mouillable RootShield Drench par m^2, en solution dans 100 L d'eau (à l'étape de la culture), de 120 g/L pour le trempage des bulbes de plantes ornementales ou de 750 g de granulés RootShield par m^3 de terreau. Les produits peuvent être appliqués sous forme de suspension de poudre mouillable sur le terreau, le sol et d'autres milieux de croissance ou sur la laine minérale dans le cas des cultures hydroponiques; il peut servir au trempage des bulbes de plantes ornementales ou être incorporé sous forme de granulés au terreau.

On prévoit que les produits RootShield contribueront de façon significative à la lutte contre les maladies racinaires dans la production serricole et la culture de plantes ornementales.

8.0 Considérations relatives à la Politique de gestion des substances toxiques

Au cours de l'examen des fongicides RootShield Drench en poudre mouillable et RootShield en granulés, l'ARLA a tenu compte de la PGST[1] fédérale et de la directive d'homologation DIR99-03[2]. Il a été établi que ces produits ne répondent pas aux critères d'inclusion de la voie 1 de la PGST parce que la m.a. est un organisme biologique et qu'il n'est donc pas visé par les critères utilisés pour définir la persistance, la bioaccumulation et les propriétés toxicologiques des produits chimiques de lutte antiparasitaire. En outre, la matière active de qualtié technique ne contient aucun sous-produit ou microcontaminant répondant aux critères d'inclusion de la voie 1 de la PGST. On ne s'attend pas à ce que des impuretés d'importance toxicologique soient présentes dans les matières premières ou soient générées au cours du processus de production en quantités suffisantes pour représenter un risque pour la santé et la sécurité humaines. Enfin, aucun produit de formulation d'importance toxicologique n'est présent dans les PC RootShield Drench en poudre mouillable et RootShield en granulés.

9.0 Projet de décision réglementaire

L'ARLA a procédé à une évaluation des renseignements à sa disposition, conformément au RPA, et elle les a jugés suffisants pour déterminer l'innocuité, la valeur et les avantages du fongicide biologique de qualité technique RootShield et de ses PC, les fongicides biologiques RootShield Drench en poudre mouilllable et RootShield en granulés. L'ARLA a conclu que l'utilisation de la souche KRL-AG2 du microorganisme *T. harzianum* Rifai contenu dans la MAQT et dans les PC conformément au mode d'emploi figurant sur l'étiquette présente des avantages et une valeur, aux termes du RPA, sans comporter de risque inacceptable. L'ARLA propose donc, à la lumière des considérations qui précèdent, l'homologation complète de l'agent microbien *T. harzianum* Rifai souche KRL-AG2 et de ses PC RootShield pour supprimer les pathogènes des racines dans les serricultures de tomates, de concombres et de plantes ornementales, ceci en vertu du RPA.

L'ARLA acceptera les commentaires écrits à propos de la décision proposée pendant les 45 jours suivant la date de publication du présent document, afin de permettre aux parties intéressées de commenter le projet de décision réglementaire à l'égard de ces produits.

---

1 La Politique de gestion des substances toxiques du gouvernement fédéral est affichée dans le site Web d'Environnement Canada, à l'adresse www.ec.gc.ca/toxics.

2 La directive d'homologation DIR99-03, intitulée *Stratégie de l'ARLA concernant la mise en œuvre de la politique de gestion des substances toxiques*, peut être obtenue en s'adressant au Service de renseignements sur la lutte antiparasitaire, dont voici les coordonnées : téléphone au Canada, 1-800-267-6315; téléphone à l'extérieur du Canada, 613-736-3799 (frais d'interurbain); télécopieur, 613-736-3798; courriel, pmra_infoserv@hc-sc.gc.ca; site Web, www.pmra-arla.gc.ca

Liste des abréviations

°C	degré Celsius
AMLA	agent microbien de lutte antiparasitaire
ARLA	Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire
cm	centimètre
cm^3	centimètre cube
CCNS	cycloheximide-chlortétracycline-nystatine-sulfate de streptomycine (gélose)
CSENO	concentration sans effet nocif observé
CSEO	concentration sans effet observé
DL50	dose létale à 50 %
DMEO	dose minimale entraînant un effet observé
EPA	United States Environmental Protection Agency
EPI	équipement de protection individuelle
g	gramme
h	heure
IMI	indice maximum d'irritation
j	jour
L	litre
LI	Lutte intégrée
LMR	limite maximale de résidus
m.a.	matière active
MAQT	matière active de qualité technique
m	mètre
mg	milligramme
NIOSH	National Institute of Occupational Safety and Health
p.c.	poids corporel
PC	préparation commerciale
PDA	gélose dextrosée à la pomme de terre
PGST	Politique de gestion des substances toxiques
p.f.	poids frais
p.s.	poids sec
RPA	*Règlement sur les produits antiparasitaires*
UFC	unité formant colonie

Annexe I Tableaux récapitulatifs

Tableau 1 Résumé d'études sur la toxicité et la pathogénicité du biofongicide RootShield *Trichoderma harzianum* souche KRL-AG2

ÉTUDES	ESPÈCES ou SOUCHES et DOSES	DL_{50}, CSEO/CSENO et DMEO	ORGANES CIBLES, EFFETS SIGNIFICATIFS et COMMENTAIRES
TOXICITÉ AIGUË			
Voie orale	Rat Sprague Dawley 13/sexe environ 10^8 UFC/sujet	$DL_{50} > 1,0 \times 10^8$ UFC/sujet	Pas d'effet sur le gain en p.c. et pas de signe clinique de toxicité, d'infectiosité ou de pathogénicité attribuable au traitement. Pas de mortalité. Agent éliminé du tube digestif dans les 2 j suivant l'administration des doses; non détecté dans l'urine, le sang ou les organes à quelque moment que ce soit. Aucun résultat significatif relevé à l'autopsie. **FAIBLE TOXICITÉ ET AUCUNE PATHOGÉNICITÉ.**
Inhalation	Rat Sprague Dawley 15/sexe environ 10^8 UFC/sujet	$DL_{50} > 1,0 \times 10^8$ UFC/sujet	Pas d'effet sur le gain en p.c. et aucun signe clinique de toxicité. Aucune mortalité. L'autopsie a révélé des taches sur les poumons chez 11 des rats mâles et femelles traités et une distension pulmonaire chez 6 rats des 2 sexes. Les lésions correspondaient à la réponse immunitaire typique d'animaux sains à l'injection d'une dose élevée d'un agent étranger (antigénique). On a constaté que l'organisme à l'essai était éliminé rapidement des fluides corporels, et qu'il n'était plus présent dans les poumons à la fin de l'étude, soit au j 21. **FAIBLE TOXICITÉ ET AUCUNE PATHOGÉNICITÉ.**
Injection	Rat Sprague Dawley 15/sexe approx. 10^7 UFC/sujet	$DL_{50} > 1,0 \times 10^7$ UFC/sujet	Pas d'effet sur le gain en p.c. pas de signes apparents de toxicité ou de pathogénicité attribuable au traitement. Aucune mortalité. Le seul effet lié au traitement était une splénomégalie chez les sujets mâles et femelles, considérée comme une réaction normale à une infection microbienne. Après l'injection, on a trouvé le microorganisme à l'essai principalement dans le foie, les poumons, la rate, les reins et le sang. On a observé une splénomégalie chez 9 rats. Au 21e j après le traitement, on a constaté une réduction radicale du nombre de microorganismes à l'essai et une clairance distincte de l'agent. **FAIBLE TOXICITÉ ET AUCUNE PATHOGÉNICITÉ.**

ÉTUDES	ESPÈCES ou SOUCHES et DOSES	DL_{50}, CSEO/CSENO et DMEO	ORGANES CIBLES, EFFETS SIGNIFICATIFS et COMMENTAIRES
TOXICITÉ AIGUË			
Toxicité et irritation cutanées	Justification à l'appui d'une exemption fournie au lieu de données	Sans objet	Compte tenu de l'absence d'effets nocifs chez les travailleurs participant à la fabrication et à l'utilisation de ces PC aux États-Unis, du caractère non toxique et de l'usage commercial répandu des ingrédients de formulation inertes (produits de formulation), de la faible toxicité et de la pathogénicité nulle du microorganisme actif d'après les essais de toxicité aigue par voie orale, pulmonaire et intraveineuse, l'ARLA a accepté d'exempter le demandeur d'effectuer les essais habituellement requis sur les PC RootShield Drench en poudre mouillable et RootShield en granulés. Par mesure de précaution, toutes les personnes travaillant en serre qui seront exposées pendant le mélange, le chargement et l'application des produits et au cours des activités menées après le traitement devront porter l'EPI requis (chemise à manches longues, pantalon, chaussettes et chaussures, gants imperméables à l'eau) pour réduire le plus possible le contact cutané avec les produits.
Irritation oculaire	Lapin Néo-Zélandais blancs 6 mâles 0,1 g de poudre de qualité technique (ou 10^5 UFC/sujet)	IMI = 2,3/110 (après 1 h)	Légère rougeur de la conjonctive observée dans tous les yeux traités après 1 h. Tous les yeux semblaient cliniquement normaux après 72 h et aucun autre signe d'irritation n'a été relevé pendant la période d'observation de 7 j. La poudre de qualité technique provoque une irritation minime. Cependant, certains ingrédients (produits de formulation) des PC RootShield sont aussi connus pour être de légers irritants oculaires. On recommande que les personnes manipulant le produit portent des lunettes protectrices afin de réduire le risque de contact avec les yeux. **MAQT : IRRITATION MINIME;** **PC : LÉGÈRE IRRITATION.**

Tableau 2 Sommaire des effets sur les organismes terrestres

Organisme	Exposition	Substance à l'essai	Valeur de référence toxicologique et commentaires
Oiseaux : Colin de Virginie	Orale aigue	Conidies de *T. harzianum* souche KRL-AG2	DL_{50} sur 30 j > 4×10^9 UFC/kg p.c (ou 11 110 mg m.a./kg p.c.) Pas de signe de toxicité ou de pathogénicité. Aucune mortalité. Comparativement aux témoins, il n'y avait pas d'effet observable sur le p.c. ou la consommation alimentaire des oiseaux. À l'autopsie, on a observé chez un oiseau du groupe traité une hypertrophie des glandes surrénales, que l'on n'a pas considérée être liée au traitement puisque les glandes surrénales des 41 autres oiseaux traités semblaient normales. **DONNÉES SUPPLÉMENTAIRES** Les données et renseignements fournis sont insuffisants pour déterminer si les microorganismes administrés aux oiseaux étaient viables. On n'exige pas d'étude de remplacement compte tenu de l'absence d'effets nocifs dans les sources publiées et du faible potentiel d'exposition des oiseaux par suite de l'utilisation en serre.
Oiseaux	Pulmonaire Inhalation Injection	Justification à l'appui d'une exemption fournie au lieu de données	La demande d'exemption était fondée sur les résultats des études de toxicité aiguë par voie pulmonaire chez le rat (voir tableau 1) et de toxicité aiguë par voie orale chez le colin de Virginie (voir ci-dessus). Même si aucun effet nocif attribuable au traitement n'a été observé, ces résultats n'étaient pas suffisants pour approuver la demande compte tenu de la difficulté à extrapoler les résultats des études de toxicité par voie orale à des études de toxicité par voie pulmonaire, et à transposer chez les oiseaux les résultats obtenus chez les mammifères. On a plutôt utilisé des sources publiées et invoqué le profil d'emploi proposé pour ces 2 formulations (c'est-à-dire en serre seulement) à l'appui de cette demande. Compte tenu de l'absence d'effets nocifs dans les sources publiées et du faible potentiel d'exposition des oiseaux, la demande d'exemption a été **ACCEPTÉE**.

Organisme	Exposition	Substance à l'essai	Valeur de référence toxicologique et commentaires
Mammifères sauvages	Aigue	Justification à l'appui d'une exemption fournie au lieu de données	La demande d'exemption était fondée sur les résultats des études toxicologiques préalablement soumises à l'ARLA pour l'homologation du fongicide RootShield en granulés dans le cadre du Programme d'importation de produits antiparasitaires en vue de la fabrication suivie de l'exportation. Comme on l'a indiqué à la section 3, aucun signe de toxicité ou de pathogénicité n'a été relevé après l'administration de la souche KRL-AG2 de *T. harzianum* à des rats par voie orale ou intraveineuse. On a observé une splénomégalie chez les animaux traités après injection intraveineuse du produit, considérée comme une réaction immunologique normale à un corps étranger. L'instillation intratrachéale de l'organisme à l'essai n'a entraîné l'apparition d'aucun signe évident de pathogénicité attribuable au traitement. En outre, on a constaté que le *T. harzianum* souche KRL-AG2 provoquait une irritation minime des yeux chez les lapins. Compte tenu de l'absence d'effets nocifs significatifs, la demande d'exemption a été **ACCEPTÉE**.
Arthropodes terrestres	Aigue	Justification à l'appui d'une exemption fournie au lieu de données	La demande d'exemption était fondée sur des documents publiés. Il n'existe aucune mention de cas où le *T. harzianum* aurait causé une infection ou tout autre effet chez les insectes ou autres invertébrés. Dans un article publié, on ne rapporte aucun effet nocif chez les abeilles domestiques traitées avec la souche T-39 de *T. harzianum*. Dans un autre article, on a utilisé des abeilles domestiques et des bourdons pour disséminer la souche KRL-AG2 de *T. harzianum*, et ce, sans effet nocif pour ces organismes. D'autres documents soulignent que des insectes, surtout des acariens, consomment les hyphes des espèces de *Trichoderma*. Compte tenu de l'absence d'effets nocifs selon les sources publiées, la demande d'exemption a été **ACCEPTÉE**.
Invertébrés (autres que les arthropodes)	Aigue	Justification à l'appui d'une exemption fournie au lieu de données	La demande d'exemption était fondée sur des documents publiés. Il n'existe aucune mention de cas où le *T. harzianum* aurait causé une infection ou tout autre effet chez les insectes ou d'autres invertébrés, y compris les invertébrés autres que les arthropodes. Dans un article publié, des lombrics ont été nourris avec de la terre infestée de *T. harzianum* T3a, sans subir d'effet nocif. Compte tenu de l'absence d'effets nocifs selon les sources publiées, la demande d'exemption a été **ACCEPTÉE**.

Organisme	Exposition	Substance à l'essai	Valeur de référence toxicologique et commentaires
Microorganismes	Aiguë	Justification à l'appui d'une exemption fournie au lieu de données	La demande d'exemption était fondée sur des publications. Les sources publiées mentionnent des souches agressives du *T. harzianum* causant la « moisissure verte ». Ces souches ont été regroupées en 2 biotypes, soit TH2 et TH4, selon la séquence des gènes ribosomiques. Des études sur les séquences de plusieurs souches de *T. harzianum* utilisées à des fins de lutte biologique indiquent qu'il existe un 3e biotype, à savoir TH1. Le biotype de la souche KRL-AG2 de *T. harzianum* n'est pas mentionné dans cette étude, mais ce renseignement n'a pas été jugé essentiel aux fins du présent examen puisque le produit ne sera pas utilisé dans les champignonnières commerciales. Comme il n'y a pas d'autre mention d'effets nocifs dans les sources publiées, la demande d'exemption a été **ACCEPTÉE** à condition que soit apposé sur l'étiquette un énoncé interdisant aux serriculteurs de distribuer les matières végétales traitées aux producteurs de champignons pour utilisation comme substrat de croissance.
Végétaux terrestres	Aiguë	Justification à l'appui d'une exemption fournie au lieu de données	La demande d'exemption était fondée sur des documents publiés. Même si le *T. harzianum* est un organisme très répandu dans la plupart des milieux terrestres, on signale rarement la présence des espèces de *Trichoderma* sur les plantes vivantes. De plus, on considère que ce champignon risque peu de s'attaquer aux plantes ligneuses ou herbacées vivantes malgré sa capacité à produire des enzymes puissantes et des métabolites secondaires régulateurs de croissance végétale. Même s'il est possible que les concentrations de ces enzymes et de ces métabolites dépassent la dose phytotoxique immédiatement après l'inoculation directe aux végétaux non ciblés, on ne s'attend pas à ce que de tels cas se produisent compte tenu du profil d'emploi en serre qui est proposé pour les PC. La demande d'exemption a été **ACCEPTÉE**.

Tableau 3 Résumé des effets sur les organismes aquatiques

Organisme	Exposition	Substance à l'essai	Valeur de référence toxicologique et commentaires
Poissons	Aigue	Justification à l'appui d'une exemption fournie au lieu de données	La demande d'exemption était fondée sur un survol de la littérature publiée, décrivant les occurrences naturelles des espèces de *Trichoderma*. Même si le champignon est très répandu dans la plupart des milieux terrestres, seuls quelques documents mentionnent la présence d'espèces de *Trichoderma* dans des milieux aquatiques, et ce, à une exception près, uniquement dans des eaux polluées. Un document faisait référence à l'isolement du *T. harzianum* à partir d'une éponge de mer. Compte tenu de l'incapacité apparente du *T. harzianum* à coloniser les eaux non polluées et en l'absence d'effets nocifs chez les poissons selon les sources publiées, la demande d'exemption a été **ACCEPTÉE**.
Arthropodes	Aigue	Justification à l'appui d'une exemption fournie au lieu de données	La demande d'exemption était fondée sur des publications. Comme on l'a signalé ci-dessus, les espèces de *Trichoderma* sont rarement isolées à partir des milieux aquatiques. Peu de documents faisaient état de la présence de ce champignon dans de tels milieux, et un seul cas concernait des eaux non polluées. Le document répertoriant ce cas mentionnait l'isolement du *T. harzianum* à partir d'une éponge de mer. Compte tenu de l'incapacité apparente du *T. harzianum* à coloniser les eaux non polluées et en l'absence d'effets nocifs chez les arthropodes selon les sources publiées, la demande d'exemption a été **ACCEPTÉE**.
Végétaux	Aigue	Justification à l'appui d'une exemption fournie au lieu de données	La demande d'exemption était fondée sur des publications. Tel qu'indiqué ci-dessus, on a rarement signalé la présence d'espèces de *Trichoderma* sur des plantes vivantes ou dans des milieux aquatiques non pollués. Comme aucun effet nocif n'a été observé chez les plantes aquatiques selon les documents publiés, la demande d'exemption a été **ACCEPTÉE**.